prior art (Viii)

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number:

03-007596

(43)Date of publication of application: 14.01.1991

(51)Int,Cl.

C12P 21/06 // A61K 7/00 A61K 7/06 C07K 15/20

(21)Application number: 01-143321

(71)Applicant : SEIWA KASEI:KK

(22)Date of filing:

06.06.1989

(72)Inventor: YOSHIOKA KAZUNARI

KAMIMURA YOICHI SHINTANI HIROSHI

(54) PRODUCTION OF KERATIN HYDROLYZATE

(57) Abstract:

PURPOSE: To obtain a keratin hydrolyzate in high yield by reducing keratin a mercaptan to form a mercaptan oxide and reducing the oxide the mercaptan into the mercaptan by electrolytic reduction.

CONSTITUTION: Keratin such as wool is dispersed into an aqueous solution of mercaptan reducing agent such as thioglycolic acid in an alkali range of pH8-11, subjected to reaction of electrolytic reduction at 0-40° C at 0.5-30A current value for 8-100 hours, disulfide bond of cystine in keratin is reduced and cleft and mercapto group is formed to give a reduced substance. Then electrolytic reduced substance is dialyzed to remove the remaining reducing agent, adjusted to pH4-10, reacted with a neutral protease such as papain at 30-60° C for 3-4 hours to give a keratin hydrolyzate having 200-20,000 average molecular weight. The mercapto group of the keratin hydrolyzate is oxidized and disulfide bond is formed to produce a keratin hydrolyzate.

19日本国特許庁(JP)

⑩特許出願公開

@ 公 開 特 許 公 報 (A) 平3-7596

SInt. Cl. 5	識別記号	庁内整理番号	❸公開	平成3年(199)	1)1月14日
C 12 P 21/06 // A 61 K 7/00	J K X	8214-4B 8413-4C 8413-4C		•	
7/06 C 07 K 15/20	*	8413-4C 8314-4C 8619-4H 寒杏譜3	全手譜 求	音求項の数 2	(全7頁)

②発明の名称 ケラチン加水分解物の製造方法

②特 顋 平1-143321

②出 顯平1(1989)6月6日

⑩発明者 吉岡 一成 大阪府東大阪市布市町1丁目2番14号 株式会社成和化成

@発明者上村洋一大阪府東大阪市布市町1丁目2番14号株式会社成和化成

@発明者新谷 博大阪府東大阪市布市町1丁目2番14号株式会社成和化成

创出 顋 人 株式会社成和化成 大阪府東大阪市布市町1丁目2番14号

四代 理 人 弁理士 三輪 鐵雄

明和

1. 発明の名称

ケラチン加水分解物の製造方法

2 特許請求の範囲

(i) ケラチンを水系熔媒中でメルカプタン類に より還元し、ついでタンパク加水分解酵素によ り加水分解する分子中にメルカプト巻を有する ケラチン加水分解物の製造方法において、

上記のケラチンを水系溶媒中でメルカプタン 類により選元する際に、上記選元液に世解選元 を行い、ケラチンがメルカプタン類により選元 されることによって生成したメルカプタン類の 酸化物を、上記電解選元によりメルカプタン類 に選元することを特徴とするケラチン加水分解 物の製造方法。

(2) 請求貝1に記載の方法によって得られたケラチン加永分解物のメルカプト基を酸化して、ジズルフィド結合を生成させることを特徴とするケラチン加水分解物の製造方法。

3.発明の詳細な説明

. (産業上の利用分野)

本発明はケラチン加水分解物の製造方法に関す 5。

〔従来の技術〕

ケラチンに含まれるシスチンのジスルフィド結合(S S結合)をメルカアタン類により選元して、ジスルフィド結合を開裂し、メルカプト基(一S H 差)を生成させて、シスチンをシステインに変換し、ついでタンパク加水分解酵素により、メルカプト基を保持しつつケラチンを加水分解して、分子中にメルカプト基を有する水溶性のケラチン加水分解物を製造する方法は、既に特公昭55-383 58号公報において明らかにされている。

しかしながら、ケラチンにメルカプタン類を加えて選元しただけでは、かなりの不溶成分が残り、水に可溶なケラチン選元物の収量が少なく、また、ケラチンを選元するには、ケラチンのジスルフィド結合に対して、通常、化学当量で数10~100倍の大過剰の選元剤を必要とし、また尿素や塩酸グァニジンなどのタンパク変性剤を必要とする。

ヒドロキシメチルフォスフィンなどの特に選元効 率の高いと言われている試薬を用いる場合には、 還元剤量を低減することができるが、それでもコ..... ストが非常に高くなる。.

また、大量の惡臭を有するメルカプタン類や商 COD、BODのタンパク変性剤を含む廃液の処 理も、実用上大きな問題となる。

[発明が解決しようとする課題]

上記のように、分子中にメルカプト基を有する ケラチン加水分解物を製造する場合には、その豆 元工程におけるケラチン選元物の収率が低く、そ の結果、分子中にメルカプト基を有するケラチン 加水分解物の収率が低くなり、しかも大量の遠元 剤やタンパク変性剤を必要とし、その廃液処理に …… も実用上大きな問題を有していた。

したがって、本発明は、上記の分子中にメルカ プト基を有するケラチン加水分解物の製造方法に おいて、その還元工程で生じる路問題を解決し、 **禹収率で分子中にメルカプト基を有するケラチン**

的平街反応であるため、ケラチンを選元すること によって生成したメルカプタン類の酸化物(ジチ オ化合物)を世界遠元によってメルカプタン類に 選元し、ケラチンの選元が行われている選元液中 のメルカプタン類の酸化物(ジチオ化合物)の湿 度が低波すると(実質的に常にりとなる)、穏や かな条件下でもケラチンを従来より速い速度で選 元することができるようになる。また、選元剤の メルカプタン類が作用し得るケラチン中のジスル・ フィド結合部位を実質的に 100%近く選元するこ とができるようになる。

また、従来では、ケラチンの選元が行われてい る遠元液中の溶存酸素により、還元剤のメルカブ タン類や一旦選売されたケラチンが酸化されて、 ジチオ化合物に逆戻りする現象が見られたが、本 発明では、低解還元により、常時還元が行われる ので、溶存酸素によるメルカプタン類の酸化や一 旦湿元されたケラチンの酸化が寒質的に防止され **る.**.

したがって、従来では、遠元液中の溶存酸素を

もっとも、国元剤としてジチオスレイトールや。 加水分解物を得ることができ、しかも、国元に用 いるメルカプタン類の使用量を低減できる製造方 法を提供することを目的とする。

(課題を解決するための手段)

本発明は、分子中にメルカプト基を有するケラ チン加水分解物の製造方法において、ケラチンを 水系溶媒中でメルカプタン類により選元する際に、 上記選元液に電解選元を行い、ケラチンがメルカ プタン類により選元されるこ とによって生成した メルカプタン類の酸化物(ジチオ化合物)を、上 記電解選元によってメルカプタン類に選元するこ とにより、上記目的を達成したものである。

上記のようにメルカプタン類によりケラチンの 還元が行われている液 (本発明においては、これ を逗元波という)を電解逗元することによって、 分子中にメルカプト基を有するケラチン加水分解 物を高収率で得ることができ、かつ選元に用いる メルカプタン類の使用量を低波できるのは、次の 理由によるものである。

すなわち、ケラチンが還元される反応は、可逆

接退元液中から追い出すためにチッ素ガスなどの 不活性ガスを選元液中に吹き込んだり、あるいは 溶存酸素による酸化を促進する 放量の重金風イオー ンを封鎖するためにEDTAなどのキレート剤を 抵加することなどが行われていたが、本発明によ れば、それらが不要になる。

また、系中に溶解したケラチンとメルカプタン 類との反応によって生成するジスルフィド化合物 も、電解還元により違元されるので、選元以後の 処理によるメルカプタン類の除去が完全に行える ため、生成物にメルカプクン臭が残らない。

さらに、木発明によれば、反応に用いた選元液 は、反応後もその液中に含まれているメルカプタ ン類が酸化されていないために、必要に応じてメ ルカプタン類を追加したり、あるいはpH調整な どの処理によって繰り返し使用することができる。

メルカプタン類を含む液は、通常メルカプタン 鎖特有の悪臭があり、また尿素などのタンパク変 性剤が用いられる場合には、COD、BODが高 く、その廃液処理に多大の問題を生じることにな ったが、本発明によれば、逗元剤を繰り返し使用 することができるので、廃液処理面での問題も解 消される。

世界選元においては、選元は陰極で生じ、酸化 は陽極で生じる。したがって、本発明のように選 元を目的とするときには、陰極格に前記の選元被 (メルカプタン類によりケラチンの選元が行われ ている液)を入れ、脳極極には電解質(たとえば 硫酸(濃度3%)〕を入れ、両者の間をイオン交 換膜などで隔離することによって電解選元が行わ れる。このような目的に使用する電解選元装置と しては、たとえば海浪アイオニクス社製のMAR K-IL2室流動型電解装置がある。電解還元時 の条件は、装置の規模、特に陸極の実質表面積や 流速、装置の規模と液量の関係。さらには選元に 1 よって陰極から発生する水素ガスの泡による効率 の低下などによっても異なるが、通常、0.5~30 Aの電流値で、B~100時間程度の条件下で電解 選元が行われる。...

太発明を実施するに際し、ケラチンとしては、

どの園屋性の中性タンパク加水分解酵素などがあります。

ケラチンの選元は、ケラチンをアルカリ域に調整したメルカプタン類(選元剤)の水溶液に入れ、 ②神下に、0~40℃の温度でケラチン中のシスチンのジスルフィド結合を選元切断してメルカプト 基を生成させることによって行われる。

この選元時の反応液(つまり、選元液)の液性はpHB~11に保つのが望ましく、そのため、選元時に水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、アンモニアなどのアルカリ剤を液中に添加して、液性を上記pHに調整するのが好ましい。

タンパク加水分解酵素による加水分解は、ペプシンなどの酸性タンパク加水分解酵素を用いる場合はpH1~4の範囲に調整し、パパインなどの中性タンパク加水分解酵素を用いる場合はpH4~10の範囲に調整して、適常、30~60℃の温度で3~48時間の反応時間で行われる。

通常、タンパク加水分解酵素による加水分解で は、盆解湿元後の反応液を透析に付して、残存す

羊毛などの欧毛、毛髪、羽毛、爪、角、蹄などを 構成するケラチンがいずれも使用可能であるが、 入手が容易であるという関点から、羊毛が特に好 ましい。

本発明において選元別として使用するメルカプタン類としては、たとえばチオグリコール酸またはその塩、メルカプトエタノール、チオグリセリン、チオサルチル酸、ピリチオン、システアミン、塩酸システアミンなどのシステアミンまたはその塩、グリセリンモノグリセリド、チオリンゴ酸、チオ乳酸、ジチオスレイトールなどがあげられる。これら以外にも、分子量200~300程度までのメルカプタン類であれば使用することができる。

また、本発明において選元後の加水分解に使用するクンパク加水分解酵素としては、たとえばペプシン、プロクターゼA、プロクターゼBなどの酸性タンパク加水分解酵素、パパイン、プロメライン、サーモライシン、トリプシン、プロナーゼ、キモトリプシンなどの中性タンパク加水分解酵素、スプチリシン、スタフィロコカスプロテアーゼな

る選元剂を除去してから、pH調整をし、タンパク加水分解酵素により加水分解するが、スプチリシンなどのように、酵素が選元剤の存在下でも活性を失わない場合には、メルカプタン類を溶解した被にケラチンと酵素を同時に添加し、質解選元を行うと同時に加水分解を行うこともできる。

得られるケラチン加水分解物は、通常、平均分子量200~20,000の範囲にされる。これはその範囲のものが毛髪への吸着性や皮膚への現和性が優れていることと、水溶性であって取扱いが容易であるからである。

上記のようにして得られたケラチン加水分解物は、分子中にメルカプト基を有するので、このケラチン加水分解物を希薄水溶液の状態で毛髪上に整布または吹きつけ、該毛髪をロッドに巻きつけて水分を乾燥させると、該加水分解物中のメルカプト基が空気中の酸素あるいは酸化剤によって酸化され、層状に接しているケラチン加水分解物の他の分子のメルカプト基と架積してジスルフィド結合を生成し、毛髪をカールしたままの状態でそ

のうえに被膜を形成する。そして、この被膜は、 ケラチン加水分解物の分子量が高い場合、水不溶 性となる。

しかも上記のケラチン加水分解物は、その分子中にアミノ基およびカルポキシル基を有するので、それらがそれぞれ毛髪を構成するケラチン中のカルポキシル基およびアミノ基と結合して遺塩するため、毛髪との結合が強固になり、水洗しても水不溶性であることと相まって容易には魁脱しない。

このようにして、本発明によって得られるケラチン加水分解物は、毛髪に損傷を与えることなく、好適なウェーブ効果ないしはセット効果を付与し、しかもその効果を長期間持統する。したかって、このケラチン加水分解物を水その他の溶剤に溶解して、パーマネントウェーブ用剤またはセット剤に配合してきるし、また、このケラチン加水分解物を在来のパーマネントウェーブ用剤やセット剤に配合してその効果を高めることができる。

また本発明のケラチン加水分解物は毛髪に類似

また、上記のように、ケラチンを水系溶媒中でメルカプタン類により還元する際に、その還元液を確解還元することによって得られたメルカプト 基を有するケラチン加水分解物を酸化することにより、つまり、上記ケラチン加水分解物のメルカプタト基を酸化して、ジスルフィド結合を生成さ

した化学構造を有するので、これを毛髪に使用した際に従来の樹脂系セット剤のような異和感を感じさせないし、またペプチド結合を有するので、 通気性を有し毛髪をむれさせることがない。

そして、本発明のケラチン加水分解物は、天然のタンパク質であるケラチンから誘導されるものであるから毛髪や皮膚に対する安全性が高く、また、メルカプト基に基づく還元性により、たとえばチオグリコール酸などのように刺激性や悪臭を有する物質が配合されている化粧品に配合すると、それらの刺激性や悪臭を低減する効果がある。

もとより、通常のペプチド(タンパク質加水分解物)と同様に毛髪のコンディショニング効果や 毛髪を保護・強化する作用を有していて、毛髪に 吸着して、毛髪に鼬、柔軟性、潤いを付与し、毛 髪の損傷を助止し、かつ損傷した毛髪を回復させ る作用を有している。

また、皮膚に対しても窺和性を有していて、皮膚に潤いと艶を付与し、かつ皮膚をなめらかにする。

せることにより、高収率で高品質のジスルフィド 結合を有するケラチン加水分解物を得ることがで きる。

上記酸化には、酸素または空気などの酸素を含んだガスをメルカプト基を有するケラチン加水分解物の水溶液中に吹き込むか、あるいは、過酸化水素、臭素酸ナトリウムなどの臭素酸塩、その他の酸化剤が使用される。ただし、酸化反応による即生物が少なく、高収率でメルカプト基をジスルフィド結合に酸化し、反応後の系中に他の反応生成物を生じさせないようにするためには、酸素または酸素を含んだガスを吹き込む方法と過酸化水素を用いて酸化する方法が適している。

酸素または酸素を含んだガスを吹き込む方法では、泡ができるだけ細かくなるようにして吹き込み、かつ既伴するのが好ましい。酸化は空温で行うことができ、また、その際の液性としては、p H 2 ~ 9、特にp H 5 ~ 8にするのが好ましい。また、その際に、鉄、網、ニッケル、コパルト、スズなどの食金属イオンを微量に存在させると、

酸化を促進するので、酸化が速くなる.

過酸化水素を用いて酸化する場合、過酸化水素の無は、1 当量程度を必要促小限とし、過期な酸化を防止するため、酸化時の温度は0~40℃、好ましくは0~30℃で、必要に応じて冷却するのが好ましく、また、酸化反応は、通常、2~24時間保护下に行われる。

证 極 面 積 : 各 1.8 d m

つぎに得られた谜液を限外認過器〔アミコン社 関、 402型セル、ダイアフローメンプランUMー 10 (分面分子量10.000))を使用して限外認過す ることによって、反応生成物の濃度を高くすると ともに、尿素と還元剤を含む溶媒を遮去した。 4 00m ℓ まで濃縮し、得られた濃縮液をセロファン 透析チュープに詰め、 0.1 N ギ (増) 酸 5 ℓ で 8 時間透析し、さらに 0.1 N ギ 酸 5 ℓ で 8 時間透析 を行った。

つぎに水酸化ナトリウムでこの液のpHを8にして、スプチリシン(菌産性の中性タンパク加水分解酵素)を10mg加えて45℃で30分間加水分解を行った。塩酸でpH2にし12時間静健してスプチリシンを失活させた後、再度pHを6にし電気透析して脱塩した。

使用された電気透析装置は、下記のとおりであ

型式:DO-Cb (帝人エンジニアリング蝌蚪) 膜名称:セレミオンCM VおよびAM V (旭硝

剤、フェイスローション、フェイスクリーム、角 質除去剤などに使用され、また、還元剤と併用し てパーマネントウェーブ用第1剤または第2剤、 セット剤などにも使用することができる。

(实施例)

つぎに実施例をあげて本発明をさらに詳知に説明する。

灵旋例1

8 N尿素 2 & に50% チオグリコール酸アンモニウム50 g を加え、水酸化ナトリウムで p H 9.0 にした液に粉砕した 羊毛 100 g を加えて分散させた後、この選元液を電解選元装置に通液し、電流 1 A でこの処理を 3 日間行ったのち、館追して残査を除去した。

使用された電解選元装置は、下配のとおりである。

装置名: 福強アイオニクス時製、MARKー I・L 2 室流動型電解装置

子瞬麒、商品名】

膜寸法: 18 cm × 12 cm

組込膜数:10対

世王:30 V

陽極波:硫酸ナトリウム水溶液 (無水磁酸ナト リウムとして約5%)

陰極液: 硫酸ナトリウム水溶液 (無水硫酸ナト リウムとして約5%)

得られた溶液を液圧濃縮して、濃度20%のケラチン加水分解物を得た。残査の乾燥重量より求めた収率は56%であった。そして、このケラチン加水分解物の分子量をゲル键過により測定したところ、平均分子量は 2,500であった。また、得られたケラチン加水分解物をSーカルボキシメチル化したのち、アミノ酸分析により、S-カルボキシメチルシスティンを定量したところ、全アミノ酸中、9.7モル%であり、得られたケラチン加水分解物中のシスティン量(つまり、メルカプト基を有するアミノ酸の量)が 9.7モル%であることが明らかにされた。

比较例i

で解選元を行わなかったほかは実施例1と同様にして渥皮20%のケラチン加水分解物の水溶液を得た。収率は37%であった。得られたケラチン加水分子量は1,900であり、また、得られたケラチン加水分解物をSーカルボキシメチルシスティンを定量したところ、全アミノ酸中、8.6モル%であった。

このように、この比較例1では、実施例1に比べて、収率が低く、また、得られたケラチン加水分解物のシステイン量が少なかった。これは、比較例1の場合、実施例1に比べて、選元・溶解が充分でないため、収率が低くなり、また選元が充分でないため、システイン量が減少したことによるものである。

比较例 2

チオグリコール酸アンモニウムの使用量を増量 し、50%チオグリコール酸アンモニウムを 100 g にし、電解選元を行わなかったほかは実施例 1 と

施例1と同様に電気透析して脱塩し、被圧濃縮して、湿度20%のケラチン加水分解物の水溶液を得た。 残査の乾燥重量より求めた収率は58%であった。 得られたケラチン加水分解物のゲル建過法による平均分子量は 1.200であり、また、得られたケラチン加水分解物をSーカルボキシメチル化したのち、アミノ酸分析により、Sーカルボキシメチルシスティンを定量したところ、全アミノ酸中、9.8モル%であった。

比较例3

電解認元を行わなかったほかは実施例2と同様にして減度20%のケラチン加水分解物の水溶液を得た。収率は35%であり、実施例2に比べて収率が低かった。得られたケラチン加水分解物のケル・ 電過法による平均分子量は 950であり、また4分・ カルボキシオルシスティンを定量したところ、全アミノ酸中、 8.5モル%であり、平均分子量、システィン量とも、実施例2に比べて低かった。

実施例2

水2 & に塩酸システアミン25gを加え、水酸化ナトリウムでpH 9.0にした液に、粉砕した羊毛100gとスプチリシン50mgを加えて分散させた後、この還元液を実施例1と同様の電解還元装置に通液し、電流1Aでこの処理を3日間行ったのち、濾過して残査を除去した。

つぎに、塩酸でpH2にし12時間辞澄してスプチリシンを失活させた後、再度pHを6にし、実

比較例 4

塩酸システアミンの使用量を増近し、塩酸システアミンを50gにし、電解還元を行わなかったほかは実施例2と同様にして緩度20%のケラチン加水分解物の水溶液を得た。収率は3g%であり、実施例2に比べて収率が低かった。得られたケラチン加水分解物のゲル濾過法による平均分子量は1.000であり、また、得られたケラチン加水分解物をSーカルボキシメチルしたのち、アミノ酸分析により、Sーカルボキシメチルシステインを定量したところ、全アミノ酸中、8.6モル%であり、平均分子量、システイン量とも、実施例2に比べて低かった。

実施例 9

実施例1で得られたメルカプト基を有するケラチン加水分解物(平均分子量2,500で、Sーカルポキシメチルシスティン量9.7モル%)の温度20%水溶液をpH7.0 に調整して、この水溶液に酸素を200m L/分で12時間吹き込んだ。

得られたケラチン加水分解物の分子量をゲル遠 .

過により測定したところ、平均分子量は5,000で あって、酸化により分子量が増加していた。

また、得られたケラチン加水分解をSーカルボキシメチル化操作をしたのち、アミノ酸分析により、Sーカルボキシメチルシステインを定量したところ、Sーカルボキシメチルシステインは検出されず、アミノ酸分析によるシスチン量は、9.7モル%であって、メルカプト基が酸化され、ジスルフィド結合が生成していることが確認された。
【発明の効果】

以上説明したように、本発明によれば、ケラチン加水分解物の収率が向上する。また、得られるケラチン加水分解物中のシステイン量、つまりメルカプト基を有するアミノ酸量も増加する。

また、本発明によれば、選元液中の不悟性ガスの吹き込みやキレート剤の添加が不要になり、また、選元液の再使用が可能なので、還元剤の使用 量が減少すると共に、廃液処理の問題も解消する。

> 特許出願人 株式会社 成和化成 代理人 弁理士 三 輪 賦 雄

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載 【部門区分】第1部門第1区分

[発行日] 平成9年(1997) 4月28日

【公開番号】特開平3-7596

【公開日】平成3年(1991)1月14日

【年通号数】公開特許公報3-76

【出願番号】特願平1-143321

[国際特許分類第6版]

C12P 21/06

CO7K 14/47

// A61K 7/00

•	7/06	
[FI]		
C12P	21/06	9452-4B
CO7K	14/47	8517-4H
A61K	7/00	J 9271-4C
•		K 9271-4C
		X 9271-4C
	7/06	8615-4C

T.

特許庁長官权

L.事件の表示

平成1年特許緊第148521号

と被正をする者

事件との関係 特許出額人

住所 大阪府東大阪市布市町1丁目1番11号

名称 株式会社 成和化成

代数者 古 岡 正 人

3.代理人 〒550 電話 06 (531) 8277

住所 大阪市西区北地江一丁目1番83号

袋田ビル四ヶ根箱

氏名 弁理士 (7806) 三 翰 壁

も他正の対象

(1) 明知者の「俗許請求の範囲」の領

. 5.特正の内容

別紙の通り

6. 役付告類の目録

[1]「特許請求の起題」を記載した書面

・「【】 ケラチンを水系搭乗中でメルカノタン選により起元し、プロピテノハシ川 水分解酵菜により加水分解する分子中にメルカプト芸を有するケラテン加水分 解他の製造方法において、

上記のケラチンを水系溶媒中でメルカプタン類により混元する際に、上記弦 元液に電解退元を行い、ケラチンがメルカプタン類により最元されることによ って生成したメルカプケン虹の酸化物を、上記電解混元によりメルカプタン類 に査元することを特徴とするケラチン加水分解物の限避方法。

(3) 請求項1に記載の方法によって得られたケラチン加水分解物のメルカプト 选を配化して、ジ<u>ス</u>ルフィド拾合を生成させることを存儀とするケラテン加水 分別物の整造方法。」

以上

1 迅